

Rec'd PCT/PTO 14 APR 2005

特 許 協 力 条 約

PCT

REC'D 03 FEB 2005

WIPO PCT

特許性に関する国際予備報告 (特許協力条約第二章)

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 PS0304	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP03/13254	国際出願日 (日.月.年) 16. 10. 2003	優先日 (日.月.年) 16. 10. 2002
国際特許分類 (IPC) Int Cl ¹ C12N15/00, C12N15/09, C12N1/00, C12M1/00 //A61K48/00, A61P35/00		
出願人 (氏名又は名称) ユニバーサル・バイオ・リサーチ株式会社		

1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。 法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。	
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。	
3. この報告には次の附属物件も添付されている。	
a	<input checked="" type="checkbox"/> 附属書類は全部で 7 ページである。
	<input checked="" type="checkbox"/> 補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面の用紙 (PCT規則70.16及び実施細則第607号参照)
	<input type="checkbox"/> 第I欄4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙
b	<input type="checkbox"/> 電子媒体は全部で (電子媒体の種類、数を示す)。 配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。(実施細則第802号参照)
4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。	
<input checked="" type="checkbox"/>	第I欄 国際予備審査報告の基礎
<input type="checkbox"/>	第II欄 優先権
<input type="checkbox"/>	第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
<input checked="" type="checkbox"/>	第IV欄 発明の単一性の欠如
<input checked="" type="checkbox"/>	第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
<input type="checkbox"/>	第VI欄 ある種の引用文献
<input type="checkbox"/>	第VII欄 国際出願の不備
<input type="checkbox"/>	第VIII欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 13. 05. 2004	国際予備審査報告を作成した日 12. 01. 2005	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 田中 晴絵	4N 9739
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (2004年1月)

第I欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

☐ この報告は、_____ 語による翻訳文を基礎とした。

それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。

- ☐ PCT規則12.3及び23.1(b)という国際調査
☐ PCT規則12.4という国際公開
☐ PCT規則55.2又は55.3という国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第	1-4, 6-41	ページ、	出願時に提出されたもの
第	5	ページ*	01.11.2004 付けで国際予備審査機関が受理したもの
第		ページ*	付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第	2-18, 20-27, 29, 30, 32-36, 38-41	項、	出願時に提出されたもの
第		項*	PCT19条の規定に基づき補正されたもの
第	1, 19, 28, 31, 37	項*	01.11.2004 付けで国際予備審査機関が受理したもの
第		項*	付けで国際予備審査機関が受理したもの

☒ 図面

第	1-15	ページ/図、	出願時に提出されたもの
第		ページ/図*	付けで国際予備審査機関が受理したもの
第		ページ/図*	付けで国際予備審査機関が受理したもの

☐ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☐ 補正により、下記の書類が削除された。

<input type="checkbox"/> 明細書	第	_____	ページ
<input type="checkbox"/> 請求の範囲	第	_____	項
<input type="checkbox"/> 図面	第	_____	ページ/図
<input type="checkbox"/> 配列表(具体的に記載すること)	_____		
<input type="checkbox"/> 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること)	_____		

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

<input type="checkbox"/> 明細書	第	_____	ページ
<input type="checkbox"/> 請求の範囲	第	_____	項
<input type="checkbox"/> 図面	第	_____	ページ/図
<input type="checkbox"/> 配列表(具体的に記載すること)	_____		
<input type="checkbox"/> 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること)	_____		

* 4. に該当する場合、その用紙に“superseded”と記入されることがある。

第IV欄 発明の単一性の欠如

1. 請求の範囲の減縮又は追加手数料の納付の求めに対して、出願人は、

- ☐ 請求の範囲を減縮した。
- ☐ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☐ 請求の範囲の減縮も、追加手数料の納付もしなかった。

2. ☒ 国際予備審査機関は、次の理由により発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、PCT規則68.1の規定に従い、請求の範囲の減縮及び追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際予備審査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

独立した請求の範囲1、19、27、31、37（発明群A）と独立した請求の範囲28（発明群B）に共通な事項は、磁性担体である。

しかしながら、磁性担体は、文献JP 6-133784 A（新技術事業団），1994.05.17に開示されているから、新規なものではない。また、特別な技術的特徴と考えられるその他の共通の事項は存在しない。

よって、両発明群に属する発明は、一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的な関係にあるとはいえず、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

4. したがって、国際出願の次の部分について、この報告を作成した。

- ☒ すべての部分
- ☐ 請求の範囲 _____ に関する部分

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-27, 31-41	有 無
	請求の範囲	28-30	
進歩性(IS)	請求の範囲	1-26, 31-41	有 無
	請求の範囲	27-30	
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-41	有 無
	請求の範囲		

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

- 文献1: JP 7-241192 A (ティーディーケイ株式会社),
1995.09.19
文献2: JP 6-133784 A (新技術事業団), 1994.05.17
文献3: F.Toneguzzo, et. al.,
Electric field-mediated gene transfer: characterization of
DNA transfer and patterns of integration in lymphoid cells.
Nucleic. Acid. Research., 1988, Vol.16, No.12, p5515-5532
文献4: WO 94/09145 A1 (CANGENE CORPORATION),
1994.04.28
文献5: EP 866123 A1 (EPPENDORF-NETHELER-HINZ GMBH),
1998.09.23

請求の範囲1-26, 31-41

請求の範囲1-26, 31-41に記載された発明は、国際調査報告に引用された文献1-5より、新規性、進歩性を有する。

文献1には、磁場の印加により目的とする細胞に所望の遺伝子を導入するための、所定の構成からなる生体物質導入装置及び生体物質導入方法が開示されており、文献2には、特定の生体物質導入用磁性微粒子、当該微粒子を用いた細胞の分離工程が開示されており、文献3-5には細胞の穿孔処理が記載されている。

しかし、上記いずれの文献にも、磁場の印加により目的とする細胞に所望の遺伝子を導入するための、生体物質導入装置及び生体物質導入方法において、收容部を挟むようにして少なくとも2方向から前記收容部に磁力を及ぼすことが記載も示唆もされておらず、また、当該事項は当業者にとって自明とも認められない。

請求の範囲27

請求の範囲27に記載された発明は、国際調査報告書に引用された文献1-2から進歩性を有しない。

独立した請求の範囲27に記載される発明は、收容部を挟むようにして少なくとも2方向から前記收容部に磁力を及ぼすという特定がなされていない。

よって、文献1の生体物質導入に関する発明において、粒子の導入効率の向上等のため、粒子形状を文献2に記載されたようなよく知られたものにしてみようとすること等は、当業者が容易に想到し得たことである。

(補充欄へ続く)

補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 V 欄の続き

請求の範囲 28-30

請求の範囲 28-30 に記載された発明は、国際調査報告に引用された文献 2 から新規性、進歩性を有さない。

文献 2 には、生体物質の細胞内へ導入に用いる、磁性微粒子が開示されており、当該磁性微粒子の形態は、非球形で角のあるものが好ましく、針状で断面が棒状のものが好ましいことが記載されている。針状の磁性微粒子とは、通常、長軸方向に磁化され又は磁化容易と認められる。

きさ、磁力源の收容部または液に対する相対的位置、磁力源の收容部または液に対する相対的速度もしくは加速度または磁力を及ぼす時間等を制御して、前記ホストと磁性担体との間を相対的に動かして衝突を促して衝突数を増加させもしくは衝突率（単位時間当りの平均衝突数）を高めること、または、例えば穿孔処理のされたホストや穿孔処理が不要な柔軟な境界部を持つホストに対しては、生体物質を保持している磁性担体を移動させて、その周囲よりも生体物質が高濃度化した領域を現出させて、ホストとの遭遇の機会を増加させて導入効率を高めることである。

衝突または遭遇を促すには、ホストまたは液に対する磁性担体の相対的な移動距離が長くなればなるほど好ましい。例えば、往復直線運動、回転運動、振動、これらの組み合わせ運動、または、その他の閉曲線に沿った運動等の周期的運動または非周期的な繰返し運動が好ましい。

このためには、磁力を1方向のみから及ぼすようにするのではなく、收容部を挟んで、少なくとも2方向から、好ましくは独立に大きさ、方向、位置を制御可能となるように及ぼすようにする。これは、1方向のみから磁力を及ぼすのであれば、磁性担体はその磁力が及ぼされる1方向のみに極短時間で移動して、その方向に沿って收容部の壁部と衝突し、該壁部に吸着または凝集した状態となる。磁性担体が一旦壁部に吸着または凝集した状態となると、単に該磁力を除去しただけでは、磁性担体は吸着した状態から解放されない。その状態では、液中で広く離散し、又は液中の一部に凝集しているホストに向けて、衝突または遭遇を促すように動かすことは難しい。吸着した状態にある磁性担体を離脱させて液中でホストとの衝突または遭遇の機会を増加させるには、吸着した磁性担体を解放する方向、例えば、收容部を挟んで磁性担体を吸着させた磁力方向と逆方向に磁力を及ぼし、磁性担体を收容部の略中央部を通して逆方向に移動させるようにする。これを繰り返してホストとの衝突または遭遇の機会を増加させる。その際、磁性担体を吸着させた磁力を除去した上で他の方向から磁力を及ぼす場合、または、磁力を除去せずに磁力を加える場合等がある。

また、磁性担体の前記收容部の壁部への吸着を最初から回避又は緩和するようにして衝突または遭遇の機会を増加させるようにすることも可能である。例えば、一方向から及ぼされる磁力に対して、磁性担体が收容部の壁部へ吸着する前に、前記方向と異なる方向から磁力を及ぼすようにして往復運動をさせるようにする。さらには、例えば、少なくとも2方向か

請求の範囲

1. (補正後) 細胞等のホストに導入すべき生体物質を保持した多数の磁性担体および多数の該ホストを液中に混合した混合液を収容する1または2以上の収容部と、
前記収容部を挟むようにして少なくとも2方向から前記収容部内に及ぼす磁力を制御して、
5 前記磁性担体を液中で前記ホストに対して相対的に動かし前記生体物質を該ホストに導入する導入処理部とを有する生体物質導入装置。
2. 前記導入処理部は、前記収容部内に磁力を及ぼすことが可能な磁力源と、前記収容部もしくは前記混合液と前記磁力源との間の相対的な位置もしくは速度、または、前記磁力源による磁力自体を変えることによって、前記磁性担体と前記ホストとの間を相対的に
10 動かすように制御する磁力制御部とを有する請求項1に記載の生体物質導入装置。
3. 前記導入処理部は、前記収容部に収容した液中の多数の前記磁性担体を磁力で液中に展開させた状態で、該磁性担体と前記ホストとの間を相対的に動かす請求項1または請求項2のいずれかに記載の生体物質導入装置。
4. 前記磁性担体は、1の長軸をもつ粒子であって、長軸方向に沿って前記ホスト
15 内に進入可能な大きさをもつ請求項1ないし請求項3のいずれかに記載の生体物質導入装置。
5. 前記収容部内には、前記生体物質とともに、前記ホストへの生体物質の導入を補助するための導入補助剤が収容されている請求項1または請求項4のいずれかに記載の生体物質導入装置。
6. 前記磁性担体は、前記生体物質を保持する保持部を有する請求項1ないし請求
20 項5のいずれかに記載の生体物質導入装置。
7. 前記磁性担体は、前記長軸方向に沿った両端または一端が先細りの形状に形成された請求項4に記載の生体物質導入装置。
8. 前記導入処理部は、前記ホスト、前記生体物質または前記磁性担体についての、性質、量または濃度に基づいて導入処理を行う請求項1ないし請求項7のいずれかに記載の
25 生体物質導入装置。
9. 前記収容部は、前記混合液が通過可能な液通過路を有し、前記磁力制御部として、該液通過路内の圧力を調節して液体の吸引吐出を行う圧力調節部を有する請求項1ないし請求項8のいずれかに記載の生体物質導入装置。

10. 前記収容部と、前記導入処理部が該収容部に対して導入処理を可能とする導

壁に吸着させて分離する磁気分離部を有する請求項1ないし請求項16のいずれかに記載の生体物質導入装置。

18. 前記磁気分離部は、前記收容部の壁方向に向かう1方向の磁力のみが及ぶように、前記磁力制御部に指示する分離指示部を有する請求項17に記載の生体物質導入装置。
- 5 19. (補正後) 細胞等のホストに導入すべき生体物質を保持した多数の磁性担体および多数の前記ホストを液中に混合して混合液を作成して1または2以上の收容部に收容する混合工程と、前記收容部を挟むようにして少なくとも2方向から前記收容部に及ぼす磁力を制御して、該磁性担体を前記ホストに対し相対的に動かし、前記生体物質を前記ホストに導入する導入処理工程とを有する生体物質導入方法。
- 10 20. 前記導入処理工程では、前記收容部または混合液と該磁場との間の相対的位置もしくは速度、または磁場自体を変えることによって前記磁性担体と前記ホストとの間を相対的に動かす請求項19に記載の生体物質導入方法。
21. 前記導入処理工程では、前記收容部に收容された液中の多数の前記磁性担体を磁力で液中に展開させた状態で、該磁性担体と前記ホストとの間を相対的に動かす請求項
- 15 19または請求項20に記載の生体物質導入方法。
22. 前記導入処理工程は、1の長軸をもつ粒子状であって、長軸方向に前記ホスト内に進入可能な大きさをもつ磁性担体を用いて、該磁性担体を動かし前記ホスト内に進入させることによって生体物質を導入する請求項19または請求項21のいずれかに記載の生体物質導入方法。
- 20 23. 前記導入処理工程の後、該磁性担体が付着しまたは進入した前記ホストを、前記收容部内に、磁力を制御することによって前記收容部の内壁に吸着して分離する分離工程を有する請求項19ないし請求項22のいずれかに記載の生体物質導入方法。
24. 前記混合工程は、前記磁性担体および前記ホストに導入すべき前記生体物質とを液中で混合させることによって該生体物質を前記磁性担体に保持させる請求項19ない
- 25 し請求項23のいずれかに記載の生体物質導入方法。
25. 前記分離工程の後、分離された前記磁性担体によって付着されまたは進入された前記ホストを前記收容部に收容した状態で、培地が收容された容器内に相対的に移動し、該ホストを該容器内に收容して培養する培養工程を有する請求項23に記載の生体物質導入

方法。

26. 培養工程において、磁性担体が進入しまたは付着した前記ホストを、磁力を及ぼすことにより培養ホストより分離して除去し、純粋に培養された培養ホストのみを得るようにした請求項25に記載の生体物質導入方法。

- 5 27. 前記ホスト内に導入すべき前記生体物質を保持した磁性担体を磁力を用いて前記ホストに衝突させまたは遭遇させて、該生体物質を該ホスト内に導入する導入工程と、前記磁性担体に進入されまたは付着されたホストを分離する分離工程と、分離された前記ホストを用いて該ホストの培養を行う培養工程と、培養ホスト内から最初に前記磁性担体によって進入されまたは付着されたホストを磁力によって分離して、純粋な培養ホストを抽出する抽出工程とを有する生体物質導入方法。
- 10

28. (補正後) 細胞等のホストに導入すべき生体物質を保持可能であって、1の長軸をもつ粒子状の磁性担体であって、長軸方向に沿って前記ホスト内に進入可能な大きさをもつとともに、該長軸方向に磁化され又は磁化容易である生体物質導入用磁性担体。

29. 前記磁性担体は、前記生体物質を保持する保持部を有する請求項28に記載
- 15 の生体物質用磁性担体。

30. 前記磁性担体は、長軸方向に沿った両端または一端が先細りの形状に形成された請求項27または請求項28のいずれかに記載の生体物質用磁性担体。

31. (補正後) 細胞等のホストに導入すべき生体物質を保持した多数の磁性担体および多数の該ホストを液中に混合した混合液を収容する1または2以上の収容部と、
- 20 前記収容部を挟むようにして少なくとも2方向から前記収容部内に及ぼす磁力を制御して、前記磁性担体を液中で前記ホストに対して相対的に動かし前記生体物質を該ホストに導入する導入処理部と、

前記ホストを穿孔する穿孔処理部とを有する生体物質導入装置。

32. 前記導入処理部は、前記収容部内に磁力を及ぼすことが可能な磁力源と、前
- 25 記収容部もしくは前記混合液と前記磁力源との間の相対的な位置もしくは速度、または、前記磁力源による磁力自体を変えることによって、前記磁性担体と前記ホストとの間を相対的に動かすように制御する磁力制御部とを有する請求項31に記載の生体物質導入装置。

33. 前記穿孔処理部は、電場または超音波等による穿孔力を及ぼすことが可能な穿孔

力源と、該穿孔力源を制御する穿孔力源制御部とを有する請求項31に記載の生体物質導入装置。

34. 前記穿孔力源制御部は、前記ホスト、前記生体物質もしくは前記磁性担体についての、性質、量もしくは濃度に基づいて穿孔力源を制御する請求項31または請求項32のいずれかに記載の生体物質導入装置。

35. 前記穿孔力制御部または前記磁力制御部は、導入処理と穿孔処理を空間的または時間的に関連付けて実行するように制御する請求項31乃至請求項33のいずれかに記載の生体物質導入装置。

36. 前記収容部は、前記混合液が通過可能な液通過路を有し、前記磁力制御部として、該液通過路内の圧力を調節して液体の吸引吐出を行う圧力調節部を有する請求項31ないし請求項35のいずれかに記載の生体物質導入装置。

37. (補正後) 細胞等のホストに導入すべき生体物質を保持した多数の磁性担体および多数の前記ホストを液中に混合して混合液を作成して1または2以上の収容部に収容する混合工程と、前記細胞等のホストを穿孔する穿孔処理工程と、前記収容部を挟むようにして少なくとも2方向から前記収容部に及ぼす磁力を制御して、該磁性担体を前記ホストに対し相対的に動かし、前記生体物質を前記ホストに導入する導入処理工程と、を有する生体物質導入方法。

38. 前記穿孔処理工程は、電場または超音波等の穿孔力を及ぼすことによって行なう請求項37に記載の生体物質導入方法。

39. 前記穿孔処理工程は、前記ホスト、前記生体物質もしくは前記磁性担体についての、性質、量もしくは濃度に基づいて穿孔力を及ぼす請求項37または請求項38のいずれかに記載の生体物質導入方法。

40. 前記穿孔処理工程および前記導入処理工程は、空間的または時間的に関連付けて実行される請求項37乃至請求項39のいずれかに記載の生体物質導入方法。

41. 前記導入処理部により処理された前記磁性担体が付着しまたは進入したホストを含有する液をまたは磁性担体が付着しまたは進入したホストを分離して移送する移送手段と、培地が収容された容器と、該容器に収容された前記磁性担体および該磁性担体が付着しまたは進入したホストを分離するための分離部とをさらに有する請求項1ないし請求項1

8のいずれかに記載の生体物質導入装置。